BULLETIN DU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
2e Série — Tome 39 — N° 1, 1967, pp. 197-204.

MODIFICATIONS COMPARÉES DES ÉLÉMENTS FIGURÉS DE L'HÉMOLYMPHE DU SCORPION SAHARIEN ANDROCTONUS AUSTRALIS *(L.)* HECTOR *C.L. KOCH* *SOUMIS SOIT A DES AGRESSIONS D'AMBIANCE SOIT A UNE IRRADIATION EXPÉRIMENTALE*

Par Jacques RODIER, Jean-Marie VEILLARD, Claude GRENOT, Philippe BLANC et Pierre NIAUSSAT

Chez *Androctonus australis (L) Hector* C. L. Koch, Scorpion saharien à piqûre mortelle (famille des Buthidae) élevé au Laboratoire, nous avons retrouvé dans l'hémolymphe les trois catégories d'éléments figurés : hémocytes hyalins, cellules sphéruleuses, hémocytes granuleux acidophiles décrits par de précédents auteurs chez *Buthus occitanus* (Am.) appartenant à la même famille. Certains éléments, que nous nommons « hémocytes annelés », et dont nous donnons une description préliminaire, y existent aussi en petit nombre (inférieur à 2 %) mais leur pourcentage augmente (pouvant atteindre 15 %) chez les spécimens soumis à des traumatismes ou à des agressions, et surtout chez les spécimens expérimentalement irradiés, chez lesquels il peut atteindre plus de 50 %. Après irradiation γ, ce pourcentage semble proportionnel à la dose de rayonnement administré, et diminue progressivement en fonction du temps, chez les individus survivants.

L'étude de la radiorésistance des Scorpions sahariens (**1**, **2**, **3**) nécessite l'élevage et la survie en Laboratoire de ces animaux pendant une durée pouvant atteindre plusieurs mois. Les conséquences de l'irradiation γ expérimentale entraînent à plus ou moins longue échéance, la mort, terme ultime de leur maladie des rayons (**2**). Avant de préciser les modifications que peut présenter la formule hémocytaire des Scorpions irradiés, il était nécessaire de connaître l'état normal de cette formule chez des spécimens de la même espèce non irradiés, mais soumis pendant un temps assez long aux conditions d'élevage et qui, malgré toutes les précautions prises, subissent de ce fait un certain nombre d'agressions dues au biotope artificiel dans lequel ces animaux sont amenés à vivre. Il était également intéressant de préciser les modifications de cette formule lors de certaines agressions expérimentales, à l'exclusion des irradiations.

Nous rapporterons donc ici l'état de la formule hémocytaire observée chez des Scorpions témoins, récemment capturés et, comparativement, chez des Scorpions de même espèce soumis depuis longtemps aux conditions d'élevage en Laboratoire, puis chez des Scorpions expérimentalement agressés et enfin, chez des Scorpions irradiés.

Matériel et conditions d'élevage.

Les spécimens ♂ et ♀ d'*Androctonus australis* (L) *Hector* C. L. Koch ayant servi à nos expériences, provenaient tous du sud algérien et étaient d'un poids moyen de 5,66 $\pm$ 0,58 gr. (**4**). Chaque Scorpion, isolé des autres, vivait dans un terrarium sur une couche de sable ; la température, à l'intérieur des enceintes, était de 20° à 30° le jour et de 20° à 25 ° la nuit. L'humidité relative était voisine de 30 %, la luminosité et la chaleur nécessaires étant fournies par une lampe de 100 W. (sur courant alternatif, secteur 120 V.). Le rythme nycthéméral était respecté et la nourriture consistait en vers de farine et en eau.

Réalisation des agressions expérimentales et des irradiations.

Nous avons fait subir à un certain nombre de spécimens des agressions thermiques brutales, en les soumettant alternativement, pendant une heure, à des températures de + 50° C et de — 20° C, avec passage brutal de l'une à l'autre ambiance.

A une autre série de Scorpions, nous avons fait subir une intoxication massive par poudre à 3 % d'hexachlorocyclohexane : mise en contact intime pendant une heure.

Enfin, les spécimens expérimentalement irradiés ont été exposés au rayonnement d'une source de Co^{60} pendant un temps tel qu'ils reçurent respectivement des doses de 50.000, 75.000 et 100.000 rœntgens. Dosimétrie de contrôle au sulfate ferreux. (Caractéristiques de la source : Gamma industrie — Irradiation multi-source : 6 sources — Capacité en Co : 600 Curies — Puissance : 90.000 rœntgens/heure pour 6 sources).

Prélèvement de l'hémolymphe et colorations.

La technique suivante de prélèvement d'hémolymphe assure la survie du Scorpion et permet de suivre les modifications des éléments figurés au jour le jour chez le même animal.

Avec une aiguille de 4/10e, montée sur une seringue intradermique, la ponction est opérée obliquement d'arrière en avant, dans le plan sagittal de l'animal, l'aiguille étant inclinée à 30° sur l'horizontale dans la chitine d'articulation entre le 6e et le 7e tergite abdominal. On fait ainsi pénétrer l'aiguille de 2 à 3 mm dans le cœur, lequel s'étend dorsalement tout au long de l'abdomen. L'hémolymphe est aspirée et une goutte déposée sur une lame puis étalée en frottis épais. Celui-ci est immédiatement séché par agitation vigoureuse de la lame pendant quelques minutes.

Nous avons utilisé la coloration classique de May-Grunwald-Giemsa et

effectué les réactions aux peroxydases suivant la technique de Sato (**5**),

Nous avons également pratiqué, sur un petit nombre de Scorpions. une numération des hémocytes : ponction entre le 4e et le 5e tergite ; la goutte d'hémolymphe est aspirée dans un mélangeur de Potain où elle est diluée au 1/10e dans le liquide suivant :

— Bleu de méthylène.............................. 0,05 Gr.

— Eau distillée.................................... 200 millilitres.

Dans les conditions, les hémocytes ne subissent aucune altération morphologique, et sont aisément comptables, dans une cellule de Malassez double. On compte les deux cellules en totalité et on fait la moyenne des deux résultats.

Résultats :

Nous avons adopté les termes utilisés par Kollmann (**6**) et Amouricq (**7**) : hémocytes hyalins, hémocytes granulo-acidophiles et cellules sphéruleuses, d'après l'étude de l'hémolymphe du Scorpion *Buthus occitanus* (Am.) vivant en France, au Maroc et dans tout le pourtour méditerranéen. L'identification des cellules était aisée grâce à la coloration de May-Grunwald-Giemsa très proche de la coloration panchrome de Laveran utilisée par les auteurs cités ci-dessus.

Le tableau suivant (tableau I) exprime, en moyenne de pourcentage, les résultats observés, tant chez les Scorpions témoins que chez les spécimens soumis à des agressions de laboratoire ou à une irradiation expérimentale.



Fig. 1. — « Hémocytes annelés » chez le Scorpion *Androctonus australis* après très forte irradiations γ

Tableau I.

Traitement expérimental	Pourcentage d'Hémocytes observés (m ± 6 et Sm).			
	Hémocytes hyalins 1er et 2e stade	Hémocytes granulo-acidophiles	Cellules sphéruleuses	Hémocytes annelés
A — Scorpions témoins. n = 9	78,89 ± 3,5 Sm = 1,2	16,78 ± 2,5 Sm = 0,80	2,66 ± 0,8 Sm = 0,20	1,44 ± 1 Sm = 0,30
B — Scorpions en élevage sévère (> 4 mois). n = 7	42,57 ± 5,5 Sm = 2,2	25 ± 8,7 Sm = 3,60	27,86 ± 2,2 Sm = 0,90	8,28 ± 3,7 Sm = 1,50
C — Scorpions intoxiqués (H.C.H.). n = 5	12,8 ± 1,6 Sm = 0,80	45,2 ± 4,6 Sm = 2,3	30,2 ± 3,8 Sm = 1,90	13,8 ± 2,7 Sm = 1,3
D — Scorpions « alternances thermiques ». n = 5	10,05 ± 1,3 Sm = 0,60	37,20 ± 5,3 Sm = 2,6	34,2 ± 4,9 Sm = 2,4	16,4 ± 2,0 Sm = 1
E — Scorpions irradiés :				
1° 100.000 r. n = 3	5,6	28	9	57,3
2° 75.000 r. J + 1 n = 3	3	21,7	22,3	53
J + 2 n = 4	3,25	27,7	13,5	55,5
J + 3 n = 4	7	12	57	21,5
3° 50.000 r. J + 1 n = 5	5,8 ± 1,3 Sm = 0,6	32,4 ± 4,4 Sm = 2,2	18,6 ± 9,4 Sm = 4,7	53,6 ± 5,1 Sm = 2,5
J + 2 n = 5	40,8 ± 1,9 Sm = 0,9	30,4 ± 2,07 Sm = 1,30	8,4 ± 1,14 Sm = 0,5	20,4 ± 1,9 Sm = 0,9
J + 3 n = 5	22 2 ± 2,8 Sm ± 1,4	56,6 ± 2,4 Sm = 1,2	3 ± 1 Sm = 0,5	18,2 ± 1,3 Sm = 0,6

En ce qui concerne les numérations d'hémocytes, qui n'ont été pratiquées que chez des Scorpions en élevage de longue durée, mais non chez des animaux irradiés, nous avons obtenu, chez cinq spécimens, les chiffres suivants :

Scorpions	*Éléments par mm³*
n° 1	4.000
n° 2	1.050
n° 3	2.350
n° 4	9.250
n° 5	7.000
Moyenne	4.730

Les figures 1 et 2 montrent l'aspect des formes non encore décrites, que nous appelons « Hémocytes annelés », qui paraissent nettement plus fréquentes chez les individus agressés et surtout chez ceux soumis au rayonnement ionisant.

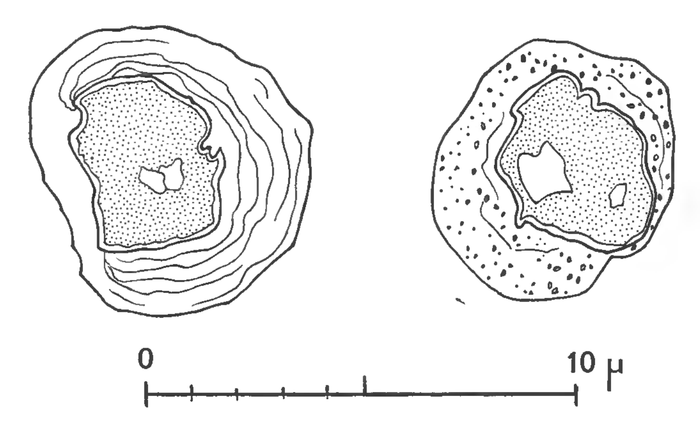


Fig. 2. — Hémocytes annelés. Cellules à granulations de type acidophile, parfois neutrophile, plus ou moins ovoïdes, ento7rées d'un anneau très net, ou d'un croissant violet de 1 à 3 µ d'épaisseur, chromatiquement très condensé.

L'examen du tableau 1 permet de constater, chez les *Scorpions témoins*, que les hémocytes hyalins sont plus nombreux (80 % environ) que les hémocytes granulo-acidophiles (17 % environ) alors que les cellules sphéruleuses sont rares (2 à 3 %) ainsi que les éléments non signalés jusqu'alors et que nous nommons : hémocytes annelés (1 à 2 %). Il s'agit, pour ces derniers, de cellules à granulations du type acidophile, mais parfois à tendance neutrophile, ovoïde, à grand axe d'environ 10 à 15 µ (c'est-à-dire atteignant la taille des hémocytes granuleux) et de petit axe de 5 à 10 µ ,entourées d'un anneau très net, ou d'un croissant violet, de 1 à 3 µ d'épaisseur. Les figures 3 et 4 précisent deux aspects de ces éléments. Les caractéristiques chromatiques de ces images annelées nous

ont amenés à y suspecter la présence d'un matériel chromatinien. Mais des colorations selon la méthode de Feulgen ne nous ont pas donné de résultats positifs au niveau de ces formations périphériques, et il semblerait peut-être possible d'y voir une formation d'origine cytoplasmique, peut-être formée de mucopolysaccharides.





FIG. 3 et 4. — « Hémocytes annelés ». — Morphologie suggérant un passage possible des formes acidophiles banales aux formes annelées.

Mais des colorations électives de ceux-ci, actuellement en cours de réalisation sur des frottis comportant ces éléments figurés, ne semblent pas confirmer cette hypothèse : en effet, ni au bleu Alcyan, ni au mucicarmin, nous n'avons obtenu, au niveau de ces formations annulaires, de coloration violacée à tendance métachromatique. Il importe donc de répéter ces colorations sur les hémolymphes de nouveaux Scorpions fortement irradiés, en utilisant également la technique au rouge de cyanine (technique de Quay (**8**) pour infirmer ou confirmer cette première impression.

Il est intéressant de souligner que ces hémocytes annelés augmentent en pourcentage chez les animaux ayant subi les agressions expérimentales variées, d'origine chimique et physique, ou même simplement, après avoir subi les micro-traumatismes d'une longue durée d'élevage en Laboratoire (voir histogramme, fig. 5). Chez ces spécimens, le pourcentage des cellules annelées peut atteindre 15 %, mais c'est surtout chez les Scorpions irradiés que le pourcentage de ces cellules annelées est important, dépassant 50 % pour des doses massives de rayonnement γ. Il est d'ailleurs intéressant de constater que ce pourcentage élevé d'hémocytes annelés décroît progressivement, en fonction du temps après l'irradiation, chez les individus qui résisteront aux effets des rayonnements ionisants. Cela est particulièrement net pour des doses de rayonnement que l'on peut qualifier de « moyennes » vis-à-vis de ces espèces extrêmement radio-

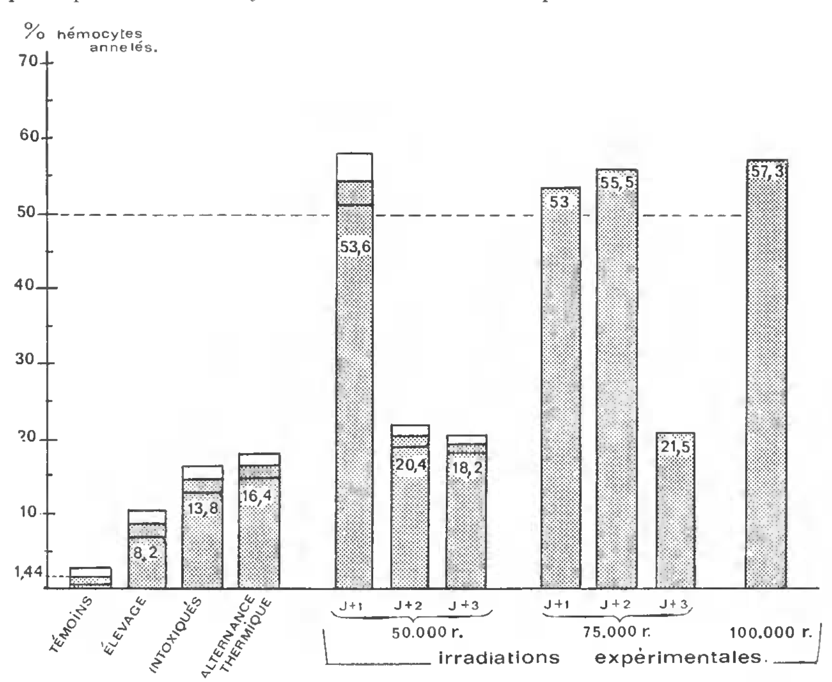


Fig. 5. — Histogramme du pourcentage d' « Hémocytes annelés » constatés dans l'Hémolymphe du Scorpion saharien « *Androctonus austrqlis* » L. Hector C. L. Koch lors de diverses agressions expérimentales ou lors d'irradiation γ. Évolution en fonction des doses et du temps.

résistantes : 75.000 et 50.000 r. (histogramme, fig. 5). Il semble qu'après une acmé située au 1er jour et au 2e jour après l'irradiation, suivant la dose, il y ait décroissance du nombre de ces cellules annelées, comme si l'hémocytopoïèse de l'animal faisait les frais de la maladie des rayons et permettait une remontée satisfaisante du pourcentage des hémocytes hyalins.

Il en est d'ailleurs de même, comparativement, pour les cellules sphéruleuses décrites par Kollmann (**6**) : elles sont peu nombreuses (2 à 3 %) chez les Scorpions témoins, mais leur nombre augmente chez l'animal expérimentalement traumatisé et peut atteindre chez eux 20 à 30 %, ainsi que chez les Scorpions irradiés.

Enfin, il nous a paru qu'il pourrait exister, chez les animaux irradiés ou agressés, un certain « balancement » entre le pourcentage des hémocytes annelés, témoins typiques d'une irradiation gravissime ou d'une agression sérieuse, et les hémocytes granuleux acidophiles, comme s'il pouvait y avoir passage d'une forme à l'autre. C'est d'ailleurs ce que suggère en plus du pourcentage numérique, certains frottis qui, chez le même animal irradié, semblent mettre en évidence le passage de la forme typiquement granuleuse, acidophile, à la forme annelée. Il ne peut cependant être question ici que d'une suggestion simplement fondée sur une observation morphologique.

Il serait évidemment nécessaire, à ce sujet, de pratiquer des coupes et des colorations au niveau des tissus des glandes de Blanchard de spécimens irradiés, pour chercher à y mettre en évidence, éventuellement, des modifications du même type. Ce travail est en cours.

Les réactions aux peroxydases par la méthode de Sato (**5**) ne nous ont jamais montré la présence de granulations bleues ou brunes, caractéristiques de la réaction positive, quel que soit le type morphologique d'éléments figurés ainsi testé.

Laboratoire d'Études et de Recherches sur les Arthropodes irradiés, M.N.H.N.
Division de Bio-Écologie du Centre de Recherches du Service de Santé des Armées. Paris.
Centre d'Études des Zones Arides, C.N.R.S.
École Principale du Service de Santé de la Marine. Bordeaux.

NOTES ET RÉFÉRENCES

(**1**) *C. R. Soc. Biol.*, 157, 1963, p. 503.

(**2**) *Comptes rendus, Ac. Sciences Paris*, 257, 1963, p. 1177.

(**3**) *Comptes rendus, Ac. Sciences Paris*, 259, 1964, p. 3389.

(**4**) Nous remercions le Docteur Irunberry, Chef du Service des Venins à l'Institut Pasteur d'Algérie, pour l'envoi d'un certain nombre de Scorpions, ainsi que le Centre de Recherches sur les Zones Arides de Béni-Abbès.

(**5**) *Diagnostics biologiques.* M. Fiessinger, M. R. Olivier, M. Herbain. 1949, Maloine, éd. Paris, p. 249.

(**6**) *Ann. Sci. Nat. Nouvelle Série* 8, 1908, p. 107.

(**7**) *Bull. Soc. Sci. Nat. Maroc* 39, 1959, p. 191.

(**8**) *Stain. Tech.* 32, 175, 1957.